

THESIS

MUNICH

1963

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE KONZENTRATION DES GLYCERINS
UND DER FREIEN FETTSÄUREN
IM LIQUOR CEREbroSPINALIS BEIM MENSCHEN

Athanase Souvatzoglu

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154022_0118

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE KONZENTRATION DES GLYCERINS
UND DER FREIEN FETTSÄUREN
IM LIQUOR CEREBROSPINALIS BEIM MENSCHEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Athanasios Souvatzoglou
aus Saloniki/Griechenland

München 1963

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Privat-Dozent Dr. K. SCHWARZ
Mitberichterstatter:	Professor Dr. Dr. G. BODECHTEL
Dekan:	Professor Dr. A. HERRMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 6. 1963

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
1. EINLEITUNG	5
a) Historisches	5
b) Physikalische und chemische Eigenschaften	5
c) Liquorräume, Bildung und Resorption, Beziehung zur interstitiellen Flüssigkeit des ZNS	6
2. ZUM BEGRIFF DER BLUTHIRNSCHRANKE	7
3. PROBLEMSTELLUNG	9
4. METHODIK	11
5. ERGEBNISSE	14
6. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	30
7. DISKUSSION	31
8. LITERATURVERZEICHNIS	36

1. EINLEITUNG

a) Historisches

Die erste exakte Beschreibung des Liquor cerebrospinalis beim Menschen geht auf Megendie im Jahre 1822 zurück, nachdem 1748 Contugno ihn im Gehirn von Fischen und Reptilien nachgewiesen hatte.

Lumbalpunktion am lebenden Menschen unternahmen zuerst W. Essex Wynber und Corning, Quincke aber (1821) führte sie als Routinemethode in die Klinik ein. Der Beginn der systematischen Erforschung des Liquors bei den verschiedenen Krankheiten ist mit den Namen Widal, Sicard, Ravaut und später Nonne eng verknüpft.

b) Physikalische und chemische Eigenschaften

Die Cerebrospinalflüssigkeit besteht zu 99 % aus H_2O , ihr spezifisches Gewicht beträgt 1,006 - 1,009, das pH 7,4 - 7,6. Sie ist gegenüber dem Plasma bis auf eine kleine Differenz von 2 mMol durch den höheren Proteingehalt des letzteren verursacht, isotonisch mit einer entsprechenden Gefrierpunktserniedrigung von - 0,56 Grad C (32). Das entspricht einer Gesamtkonzentration von 301,4 mMol/1000 ml H_2O osmotisch wirksamer Teilchen. Die totale Ionenäquivalenz verhält sich zu derjenigen des Plasmas wie 304 : 316 mval/Liter. Dabei zeigen von den Kationen K und Ca deutlich tiefere Werte (10 bzw. 5 mg %) gegenüber dem Plasma bei einem äquivalenten Na- und Mg-Gehalt (37). Dagegen fand Ruszniak einen höheren Cl-Ionenspiegel von 449 mg % im Vergleich zum Plasmaspiegel von 360 mg %. Über die Kräfte, die die unterschiedliche Elektrolytzusammensetzung bedingen, kann man noch keine verbindliche Aussage machen.

Bei einem Verhältnis des Totalproteingehaltes zwischen Liquor und Plasma von 1 : 400 (- 1 : 200) beträgt das Gesamteiweiss in der Cerebrospinalflüssigkeit 10 - 25 (- 40) mg % (26), wobei die elektrophoretische Trennung einen höheren beta-Globulin- und einen tieferen gamma-Globulin-Gehalt gegenüber dem Plasma ergibt.

Der Glucosespiegel schwankt um 72 mg % und folgt den Schwankungen des Blutes mit 1 - 2 Stunden Verspätung. Im Gegensatz zu den anderen Bestandteilen ist der Zuckergehalt im Ventrikelliquor am höchsten, dann folgt der Cisternen- und schliesslich der Lumballiquor mit den tiefsten Werten.

Alle anderen organischen Verbindungen, die bis heute nachgewiesen sind, liegen unter dem normalen Plasmaspiegel. Stickstoffhaltige Substanzen, wie der Rest N, Xanthoprotein, Tryptophan, Indikan, Harnstoff, Kreatin und Kreatinin sind in kleinen Mengen nachgewiesen und steigen nur unter pathologischen Bedingungen mit

dem Blutspiegel auch im Liquor an. Von den organischen Säuren, die im intermediären Fett- und KH-Stoffwechsel entstehen, findet sich eine Vermehrung der Milchsäure (Normalwert 8 - 16 mg %) nach Muskelarbeit, bei Geschwülsten des ZNS, Eklampsie und Meningitis; beim letzteren kann sogar der Milchsäuregehalt des Liquors weit über den des Blutes hinausgehen. Auch Brenztrauben-, Bernstein-, Citronen- und Oxalsäure lassen sich in sehr kleinen Mengen nachweisen. Acetonkörper fehlen normalerweise im Liquor; sie finden sich beim Diabetes, besonders im Koma, ferner bei verschiedenen organischen Nervenkrankheiten und auch bei Meningitis (32). Lipide, Phosphatide und Steroide sind bisher in ganz geringen Mengen nachgewiesen worden.

Schliesslich sind noch Vitamine (C, Aneurin und Nikotinsäure), Hormone (Hypophysen-Hinterlappen- und Steroidhormone) in minimaler Konzentration und eine Reihe von Fermenten (Cholinesterase, Phosphatase, Amylase) im Liquor enthalten (26).

c) Liquorräume. Bildung und Resorption.

Beziehung zur interstitiellen Flüssigkeit des ZNS

Der Liquor wird vom Blutstrom durch den Plexus chorioideus in den Gehirnventrikeln gebildet, normalerweise 50 - 400 ml täglich. Das Volumen der vier Ventrikel beträgt etwa 40 ml. Eine Schicht von Ependymzellen kleidet die inneren Liquorräume des Gehirns und des Rückenmarks aus und trennt so die Cerebrospinalflüssigkeit vom Nervengewebe. Durch die Öffnungen am Dach des vierten Ventrikels (Foramen Magendie und Foramina Luschkae) fliesst der Liquor in den Subarachnoidalraum. Der spinale Teil dieses Raumes, der ungefähr 75 ml der Flüssigkeit einschliesst, reicht kaudalwärts bis zum Ende des Durasackes und umschliesst in der Cisterna terminalis nur noch die Cauda equina und das Filum terminale. Etwa 25 ml umfasst der cerebrale Teil des Subarachnoidalraumes. Das gesamte Volumen der Liquorräume beträgt also 140 ml. Die Rückresorption erfolgt durch die Arachnoidalzotten.

Auch neuere Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen machen wahrscheinlich, dass der Plexus chorioideus nicht der einzige Bildungsort des Liquors sei (46). Es scheint über die grosse Oberfläche der Pia und des Ependyms einen extrem raschen Austausch von Substanzen mit niedrigem Molekulargewicht zwischen dem relativ kleinen Volumen der Cerebrospinalflüssigkeit und der Masse des Gehirns und des Rückenmarks zu geben. Bering (6) konnte D_2O , das vorher intravenös injiziert worden war (Versuche an Menschen und Tieren), gleichzeitig in den Ventrikeln, Cisternen und dem lumbalen Subarachnoidalraum nachweisen, in Mengen, die der Grösse der Kontaktfläche zwischen dem Nervengewebe und der Cerebrospinalflüssigkeit in den verschiedenen Etagen entsprechend waren. Er konnte (5) ferner zeigen, dass die Entfernung des Plexus chorioideus überhaupt keinen Einfluss auf den

Austausch von K, Na, D_2O , jodiertem Albumin zwischen Blut und Liquor hat. Das Plasma ist in Gleichgewicht, was den Stoffaustausch betrifft, mit den Zellen des ZNS durch die interstitielle Flüssigkeit und vielleicht direkt durch die Zytoplasmafortsätze der Astrozyten an den Kapillaren (s. a. Kap. über Bluthirnschranke). Durch das Ventrikelependym also, der Membrana limitans gliae und der Pia mater des Subarachnoidalraumes befindet sich der Liquor in Gleichgewicht mit der interstitiellen Flüssigkeit und den Zellen des ZNS. Dies muss zusätzlich zu der direkten Beziehung des Plasmas zum Liquor durch den Plexus chorioideus und die Arachnoidalzotten berücksichtigt werden (44).

2. ZUM BEGRIFF DER BLUTHIRNSCHRANKE

Im Jahre 1885 beobachtete Ehrlich (17), dass gewisse Anilinfarben intravenös injiziert die meisten Gewebe des Körpers rasch zu färben schienen mit Ausnahme des ZNS. In den folgenden 50 Jahren wurden verschiedene Farben und andere histologisch identifizierbare Substanzen (z.B. Ferricyanid und Silber) untersucht; man fand, dass diese Substanzen, in die Cerebrospinalflüssigkeit gebracht, viel schneller in das Gehirngewebe eindringen als über den Blutstrom (22, 31). Obwohl diese Beobachtungen später von zahlreichen Autoren bestätigt wurden, sieht sich in jüngster Zeit Dobbing (16) veranlasst, hierzu folgendes zu bemerken: "Es gibt wenig zufriedenstellende Beweise dafür, dass irgend eine Substanz in das Gehirn leichter, schneller und in grösseren Mengen über den Liquor- als über den Blutweg eintritt, obwohl dies der Fall sein könnte. Es ist unmöglich, dem Gehirn auf beiden Wegen gleiche Mengen einer Lösung über eine gleichgrosse Kontaktfläche und Zeitdauer und in einem ähnlichen physikalischen und chemischen Zustand anzubieten." Jedoch scheinen die Beweise Dobbings nicht restlos zu überzeugen (48).

Mit Hilfe von radioaktiven Isotopen untersuchte man den Austausch wichtiger physiologischer Substanzen zwischen Blut und extracellulärer Flüssigkeit des Gehirns. Gewisse Stoffwechselprodukte, wie Glucose, O_2 , CO_2 , stark lipoidlösliche Substanzen und Wasser bewegen sich rasch zwischen den beiden Räumen. Bei anorganischen Ionen dagegen und den meisten anderen stark dissoziierten Substanzen wird das Gleichgewicht sehr langsam hergestellt (16, 11, 47). Die Herstellung des Gleichgewichts von Substanzen, die im Blut gelöst sind, im extravasculären Raum des ZNS ist mit wenigen Ausnahmen langsamer als im interstitiellen Raum der meisten anderen Gewebe. Dieses Phänomen definiert die Bluthirnschranke empirisch. Allerdings müsste man die Unterschiede des Stoffwechsels in den verschiedenen Geweben berücksichtigen, die dieses Phänomen erklären könnten, zumindestens, was die verschiedenen Metaboliten betrifft (16).

Die meisten Autoren lehnen heute eine anatomische Struktur als Träger der Funktion der Bluthirnschranke ab. Die Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen

sind tatsächlich vielfältig und zum Teil einander widersprechend. Brierley (8) nimmt an, dass die Zementsubstanz der Gehirnkapillaren in ihrer Funktion sich von der der übrigen Kapillaren des Körpers unterscheidet, während Davson (12) eine sekretorische Aktivität des Endothels für wahrscheinlich hält. Maynard u. a. (34) sahen im Elektronenmikroskop keine Poren an der Kapillarwand des Rattenhirns und stellten dieses Phänomen als eine Eigentümlichkeit der Gehirnkapillaren überhaupt hin. Diese Beobachtung ist von Farquhar und Hartmann (18) nicht bestätigt worden; sie meinten durch elektronenmikroskopische Untersuchungen Poren an der Wand der Gehirnkapillaren nachgewiesen zu haben; in diesem Fall würde die Kontaktfläche zwischen Blut und Gehirn, die einem Stoffaustausch zwischen den beiden dient viel kleiner sein als zwischen Cerebrospinalflüssigkeit und Gehirn, ein stichhaltiges Argument gegen die Lokalisation der Bluthirnschranke an der Kapillarwand. Die Membrana limitans gliae, als anatomisches Substrat der Schranke auch diskutiert (5), wird wahrscheinlich von Zytoplasmafortsätze der Astrozyten gebildet, die sich der Kapillarwand direkt aufsetzen. In welchem Ausmass nun die Kapillaroberfläche von der so entstehenden Membran bedeckt wird, ist z. Zt. nicht entschieden. Die meisten Morphologen jedoch glauben, dass die Membrana limitans gliae als zusammenhängende Membran, sowie die verschiedenen perivaskulären Räume als ein Artefakt anzusehen ist. Nach neueren Forschungsergebnissen (34) sollen 85 % der Kapillaroberfläche mit einer einfachen, unvollkommenen "Zytoplasmalage" nicht konstanter Dicke besetzt sein.

Der Stand unserer Kenntnisse heute erlaubt nicht die Frage der Existenz oder eines nicht existierenden extracellulären Raumes im Nervengewebe, (d. i. jeder Raum, der weder Blutgefäss, noch Zelle, noch Myelinscheide ist) endgültig zu entscheiden. Während elektronenmikroskopische Untersuchungen diesbezüglich sich polar gegenüberstehen (15, 19, 27, 53), wurde dieser Raum mit physikochemischen Methoden auf 15 % des Gehirnfrischgewichts berechnet (1). Das Fehlen des extracellulären Raumes würde wohl eine Erklärung für die Behinderung des Eintrittes gewisser Substanzen (besonders Ionen und an Protein gebundene Verbindungen) ins Gehirn bieten, andererseits aber müsste man mit dieser Hypothese annehmen, dass der transkapilläre Austausch, sonst im Körper universal vertreten, dem Gehirn abzusprechen wäre, einem Organ, dessen Stoffwechsel genau so gross ist, wie der irgendeines anderen; auch die heute gültige Theorie der Leitung von Nervenimpulsen wäre ohne extracellulären Raum ernstlich in Frage gestellt. Die Beweise für diese Hypothese reichen nicht aus (16).

Man versuchte noch, die Faktoren, die die Grösse der Austauschrate für die verschiedenen Substanzen zwischen Blut und Gehirn bedingen, auf physikochemische Eigenschaften zurückzuführen, also auf elektrische Ladung, Grösse des Moleküls, Dissoziationskonstante, Proteinbindung, Lipoidlöslichkeit oder deren Kombinationen. Doch kann kein derartiger Erklärungsversuch einer kritischen Betrachtung völlig standhalten.

Die einzigartige Beziehung des ZNS zum Blut in Bezug auf den Übertritt von Substanzen zwischen den beiden ist unbestreitbar; das gleiche aber trifft für jedes hochspezialisierte Gewebe des Körpers zu. Die Behauptung, dass das Schrankenphänomen für alle Substanzen die gleiche Struktur besitzt, oder einen ähnlichen Mechanismus hat, ist nicht statthaft. Bei jeder einzelnen Substanz dürfen nicht nur ihre individuellen Eigenschaften, sondern all die komplexen physikochemischen Faktoren im Blut, in der Gefässwand und im Nervengewebe berücksichtigt werden (16). Herlin meint: "Es ist nützlich, in den Ausdruck Schranke alle die Phänomene einzuschliessen, die den Eintritt einer Substanz in das ZNS verhindern, verringern, verzögern, oder sogar wirklich erleichtern. Der Eintritt kann erfolgen durch Dialyse, Ultrafiltration, Osmose, Donnan-Gleichgewicht, Lipoidlöslichkeit, besondere Gewebeatfinität oder metabolische Aktivität. Eine genauere Definition würde eine exaktere Kenntnis des Schrankenmechanismus voraussetzen" (25). Einer metabolischen Erklärung dieses Mechanismus sind die Schlüsse von Waelsch (49) noch näher, nämlich, dass "die Funktion der Schranke möglicherweise genau so stark von dem Stoffwechsel der Gehirnzellen wie von einer besonderen Zusammensetzung des zirkulierenden Blutes bestimmt wird".

Im allgemeinen betrachtet man die Bluthirnschranke als einen Schutz für das Gehirn, nicht nur vor toxischen Farben, Bakterien und Toxinen, sondern auch vor der Aufnahme einer übergrossen Menge von Elektrolyten und Kolloiden, einschliesslich des Phosphors und anderer Metaboliten, die das zentralnervöse Gewebe eifrig binden würde, wenn es dieses Hindernis nicht gäbe (2, 3). Richter (36) glaubt, dass das Gehirn dadurch vor Änderungen in der Zusammensetzung des Blutes und vor dem Eintritt toxischer Substanzen geschützt wird; er postuliert daraus für das ZNS einen Homöostasegrad, der von keinem anderen Gewebe erreicht wird. Nun, diese Annahmen bedürfen einer detaillierten experimentellen Untersuchung. Die eigenen homöostatischen Mechanismen des Gehirns sind nicht eindrucksvoll genug, man bedenke, wie extrem schlecht das Ergebnis einer metabolischen Verarmung für sogar kurze Zeit ist.

3. PROBLEMSTELLUNG

Die Untersuchungsergebnisse der letzten Jahre haben gezeigt, dass im Zuge einer Fettmobilisation, wie sie beispielsweise unter Einwirkung von ACTH, STH, Adrenalin, Noradrenalin und Glukagon auf den menschlichen Organismus zustande kommt (21, 24, 30, 40, 41, 42, 50) es zu einer erheblichen Zunahme der im Blut zirkulierenden freien Fettsäuren (NFS) kommt. Als deren Entstehungsort wird im wesentlichen das Fettgewebe angesehen, von wo aus ihre Abgabe an das Blut entsprechend den augenblicklichen Stoffwechselbedürfnissen des Organismus erfolgt.

Die naheliegende Annahme, denn das Fettgewebe besteht ja vorwiegend aus Tri-

glyceriden, dass der Abgabe der der NFS eine Hydrolyse der Glycerinester vorausgehe und somit gleichzeitig eine Erhöhung des Glycerinspiegels im Blut erfolgen müsse, konnte ebenfalls bestätigt werden. Während nun ein Teil der freien Fettsäuren im Fettgewebe selbst durch Veresterung zu Neutralfetten, bzw. Lipiden resynthetisiert wird, kann das Glycerin mangels einer spezifischen Glycerokinase im Fettgewebe (51) nicht mehr als Acyl-CoA-Acceptor fungieren, verlässt vollständig dieses Gewebe und gelangt in das Blut. "Das Verhalten" also "des freien Glycerins im Serum stellt einen brauchbaren Index einer vermehrten Fettmobilisation dar, wobei sowohl das freie Glycerin als auch die nicht veresterten Fettsäuren als rasch verwertbare Substanzen für andere Organe aus dem Fettgewebe bereitgestellt werden" (43).

Tatsächlich ist der Stoffwechselumsatz der freien Fettsäuren im Organismus beträchtlich, vergleichbar mit dem der Glucose. Versuche mit C^{14} -markierter Palmitinsäure (20, 29) ergaben eine biologische Halbwertszeit von 1 - 2 Min und Dole errechnete, dass die freien Fettsäuren beim hungernden Menschen für mehr als die Hälfte des Energiebedarfs aufkommen können. Durch Messungen arteriovenöser Differenzen konnte man noch zeigen, dass sowohl der Herz- als auch der Skelettmuskel bis zu 30 bzw. 20 % des arteriellen Angebotes verwerten können (4, 7, 9). Die universelle Bedeutung der freien Fettsäuren für den Organismus als Lieferanten eines rasch verwertbaren Substrates zur Energiegewinnung in der Zelle offenbart sich in der Tatsache der Erhöhung des Angebotes an die Peripherie bei der Hypoglykämie (Hungerzustand) und beim plötzlich gesteigerten Energiebedarf wie er sich z. B. nach Adrenalinausschüttung einstellt (50). Im letzten Fall sogar erfolgt die NFS-Freisetzung aus dem Fettgewebe zunächst schneller als die Mobilisierung der Glucose aus dem Glykogen.

Während das Glycerin einen fast genau so hohen Umsatz aufweist (seine biologische Halbwertszeit beträgt nach Untersuchungen von Schwarz und Mitarbeitern etwa 2 Min (43)) wie die NFS, scheint seine Utilisation auf die Leber und die Nieren beschränkt zu sein: Wieland (51) konnte nur in diesen Organen das Ferment Glycerokinase nachweisen, dass die Phosphorylierung des freien Glycerins zu L- α -Glycerophosphat bewirkt und so erst die verschiedenen Umsetzungen des Glycerins wie Synthese der Phosphatide und der Neutralfette, Glucose-, Glykogenbildung und oxydativen Abbau ermöglicht. Ferner konnte er im Gehirn und im Herzmuskel höhere Glycerinkonzentrationen pro gr. Frischgewicht nachweisen (36,0 bzw. 43,4 μ Mol/Liter) als in der Leber und in den Nieren - in den übrigen Geweben war kein Glycerin zu finden -, obwohl die beiden erstgenannten Organe ähnlich den restlichen einschliesslich des Fettgewebes keine Glycerokinaseaktivität aufweisen (52) und so diese Triose nicht zu utilisieren vermögen.

Während nun die meisten Organe in der Lage zu sein scheinen, ihren Energiebedarf aus freien Fettsäuren und zum Teil aus Glycerin, sofern sie über Glycerophosphat-

kinase verfügen, zu decken, nimmt das ZNS in seinem Stoffwechsel diesbezüglich eine Sonderstellung ein. Sein Brennmateriale sind die Kohlenhydrate und aufgrund seiner sehr geringen Glykogenreserve ist es praktisch dauernd auf die exogene Glucosezufuhr angewiesen, die es dank seines Hexokinaserichtums rasch zu verwerten vermag. Es scheint keine freien Fettsäuren aus dem Serum aufzunehmen. Nach einer persönlichen Mitteilung von Gottstein haben sich bei arteriovenösen Bestimmungen keine signifikanten Unterschiede der NFS-Konzentration ergeben. Allerdings bleibt der RQ trotz des hohen Glucoseverbrauches (5 mg/100 g Hirngewebe in der Minute) um 0,97 - 0,99 immer unter 1.

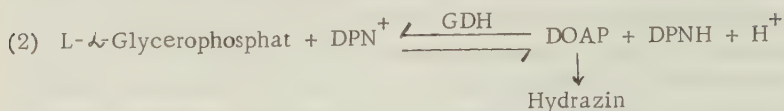
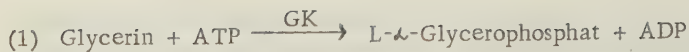
Die meisten anorganischen und organischen Substanzen in der Cerebrospinalflüssigkeit stehen zu den entsprechenden Bestandteilen des Blutes in einem bestimmten Verhältnis (10, 14, 32, 35). Dabei ist der jeweilige Blut-Liquorquotient unter physiologischen Bedingungen recht konstant. Allerdings unterscheidet sich das Spektrum der freien Aminosäuren im Liquor erheblich von dem des Blutes (28). Auch Hormone der Hypophyse und der Nebennierenrinde wurden in wesentlich niedrigeren Konzentrationen als im Blut nachgewiesen, jedoch keine Insulinaktivität (33, 38, 39).

Diese Erkenntnisse und die enge Beziehung des Liquors mit der interstitiellen Flüssigkeit des Gehirns und somit indirekt mit den Stoffwechselprozessen in der Nervenzelle selbst (s. a. Einleitung), wie auch die Tatsache, dass die Bluthirnschranke eher als ein aktives, metabolisches Geschehen als nur eine Frage der Permeabilität irgendeiner strukturellen "Wand" anzusehen ist, liessen uns durch Untersuchungen über den Glycerin- und NFS-Gehalt der Cerebrospinalflüssigkeit sowohl bei gesunden als auch bei Patienten mit neurologischen Krankheitsbildern Hinweise auf den Stoffwechsel des Gehirns erwarten.

4. METHODIK

a) Bestimmung des Glycerins

Die Bestimmung des Glycerins im Liquor wurde in Anlehnung an das von Wieland angegebene optisch-enzymatische Verfahren durchgeführt. Die Methode beruht auf der Phosphorylierung des freien Glycerins zu L- α -Glycerophosphat durch das Enzym Glycerokinase und der sich als Hilfsreaktion anschliessenden Dehydrierung von L- α -Glycerophosphat durch das DPN-abhängige Baranowski-Enzym (Glycerophosphatdehydrogenase). Die Menge der nach Ablauf der Umsetzungen gebildeten DPNH, welche der phosphorylierten Glycerinmenge äquimolar ist, dient als Messgrösse.



Das Gleichgewicht der Reaktion (2) wird durch Abfangen des Dioxyacetonphosphates (DOAP) mit Hydrazin nach rechts verschoben.

Reagentien: 1) Hydrazin-Glykokoll-Puffer, pH 9,8 mit Mg^{++} . 20,8 gr. Hydrazinhydrat 24 % (Fa. Merck), 1,5 gr. Glykokoll und 0,2 ml 1mMgCl_2 werden mit Aquadest und einigen Tropfen 10 n-KOH zur Einstellung eines pH von 9,8 auf 100 ml Endvolumen gebracht. Dieser Puffer ist an Hydrazin 1m, an Glykokoll 0,2 m, an Mg^{++} 0,002 m.

2) Glycerokinase (GK, Fa.Boehringer)

3) Glycerophosphatdehydrogenase (GDH, Fa.Boehringer)

4) $5'\text{-ATP-Na}_2\text{H}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Fa.Boehringer)

5) DPN (Fa.Boehringer)

Ausführung: In eine Cuvette mit der Schichtdicke 1 cm pipettiert man hinein 1,36 ml Hydrazin-Glykokoll Puffer (1), 0,05 ml ATP (4), 0,06 ml DPN^+ (5), 0,02 ml GDH (3), 0,1 ml Liquor und 0,4 ml Aquabidest. Nach Umschütteln lässt man eine evtl. "Leerreaktion" zum Stillstand kommen und misst die Extinktion bei 366 m μ gegen eine Vergleichscuvette, die Puffer, ATP, DPN, GDH, Aquabidest in gleichen Mengen wie oben und statt Liquor 0,1 ml Aquabidest enthält. Hierauf startet man die Reaktion mit 0,01 ml (etwa 500 E) GK (2). Die Veränderung der Lichtabsorption, die auf die DPNH-Bildung zurückzuführen ist, wird im Photometer Eppendorf angezeigt, mittels eines Direktschreibers (Fa. Phillips) dauernd als Kurve registriert und bis zum Stillstand verfolgt. Die Messung erfolgt ebenfalls bei 366 m μ gegen die Vergleichscuvette, der man auch 0,01 ml GK zugegeben hat.

Berechnung: Für die Berechnung der Glycerinkonzentrationen wurde der Absorptionskoeffizient für DPNH bei 366 m μ = $3,3 \times 10^6$ /Mol zugrundegelegt. Da in unserem Testsystem die Phosphorylierung von 1 Mol Glycerin mit der Bildung von 1 Mol DPNH einhergeht, errechnet sich die Glycerinmenge wie folgt:

$$\mu\text{Mol Glycerin im Ansatz} = \frac{\Delta E_{366} \times \text{ml Testvolumen d. zu unters. Flüssigkeit}}{3,3}$$

Die Enteiweissung des Liquors erwies sich wegen seines normalerweise geringen Eiweissgehaltes als umgänglich. In methodischen Vorversuchen konnten wir keine Konzentrationsunterschiede zwischen nativem und durch Kochen enteiweisstem Liquor nachweisen. Dagegen trat bei einer länger als dreitägigen Aufbewahrung

des Untersuchungsmaterials in der Kühltruhe bei 4°C regelmässig ein erheblicher Glycerinverlust ein.

Anhand von zehn Glycerinbestimmungen einer $50\text{ }\mu\text{-molaren}$ Lösung (4,6 mg Glycerin in 1000 ml H_2O) bestimmten wir den Konzentrationsverlust, der bei unseren Messungen entstand. Er betrug im Mittel 22,8 % d. h. pro Einsatz (0,46 μ) trat durchschnittlich ein Verlust von 0,1 μ ein.

b) Bestimmung der freien Fettsäuren (NFS)

Die Bestimmung der NFS erfolgte nach der von Dole angegebenen Methode.

Reagentien: 1) Isopropylalkohol p. a. (Fa. Merck)

2) n-Heptan p. a. (Fa. Merck)

3) n-Schwefelsäure

4) Extraktionslösung: 40 Teile Isopropylalkohol + 10 Teile Heptan + 1 Teil H_2SO_4

5) Titrationslösung: 0,01 % Thymolblaulösung (täglich frisch hergestellt aus einer 0,1 % wässrigen Thymolblaulösung, indem man mit 9 Teilen Alkohol verdünnt).

6) Alkalilösung: 0,018 n-NaOH, 0,72 gr. NaOH werden mit abgekochtem Aquadest auf 100 ml aufgefüllt. Die Lösung wird in einer braunen Schliffflasche unter einem Calciumcarbonat-Röhrchen aufbewahrt und der Titer vor jeder Bestimmung mit einer 0,018 n- H_2SO_4 (1,8 ml n- H_2SO_4 auf 100 ml Aquadest) eingestellt.

Die titrierbare Säure des Äthanol steigt allmählich an. Durch Zugabe einiger Tropfen der Alkalilösung kann diese jedoch leicht auf ein Minimum reduziert werden.

7) Standardlösung: 585 $\mu\text{Äqu. / Liter}$ Palmitinsäure (150 mg unkristallisierte Palmitinsäure (Molekulargewicht 256,42) werden in 1000 ml Heptan gelöst).

Ausführung: In einem 25 ml Erlenmeyerkolben mit Schliffstopfen werden nacheinander 1 ml Liquor und 5 ml der Extraktionslösung (4) pipettiert, kräftig geschüttelt und mindestens 10 Min. stehen lassen. Zu diesem Gemisch wurden 3 ml Heptan (2) und 2 ml Aquadest gegeben. Nach Umfüllen in ein Reagenzglas trennen sich 2 Phasen; die obere Schichte entspricht mengenmässig gut dem eingesetzten Heptan (3 ml). Von der oberen Phase werden 3 ml in ein konisch zulaufendes Zentrifugenglas abpipettiert und 1 ml der Titrationslösung (5) zugegeben. In dem Zentrifugenglas hat man nun 2 Phasen auf dem Boden des Glases, die durch Einblasen von Stickstoff mit einer Glaskapillare gemischt werden. Gleichzeitig wird störendes CO_2 durch den Stickstoff ausgetrieben. Die Titration erfolgt nun mittels einer Mikrobürette mit Alkali (6) von gelb zu gelbgrün. Der Farbumschlag wird durch ein kurzes Unterbrechen des Gasstromes festgestellt. Eine entsprechende Beleuchtung erleichtert die Bestimmung des Endpunktes der Titration.

Bei jeder Versuchsreihe laufen 2 Standardlösungen (585 $\mu\text{Äqu. / Liter}$ Palmitinsäure)

mit. Man gibt 1 ml Standardlösung zu 1 ml Titrationslösung und titriert bis zum Umschlag von gelb zu gelbgrün.

Berechnung:

$$\text{NFS-Konzentration in } \mu\text{Äqu. / Liter} = \frac{\text{ml der verbrauchten Alkali-(6)lösung beim Liquoransatz x 585}}{\text{ml der verbrauchten Alkali-(6)lösung bei der Standardlösung}}$$

Palmitinsäure wurde als Standardlösung gewählt, da diese aufgrund gaschromatographischer Untersuchungen mit der Hauptbestandteil der NFS im Serum ist. Es kann somit als mittleres Molekulargewicht der NFS das Molekulargewicht der Palmitinsäure angenommen werden. Die Grenze der Ablesungsgenauigkeit beim Titrieren betrug 0,0005 ml, wobei 0,001 ml etwa 15 $\mu\text{Äqu. / Liter}$ Fettsäuren entspricht.

5. ERGEBNISSE

Der besseren Übersichtlichkeit halber geben wir die Ergebnisse in tabellarischer Form wieder. In der Tabelle 1 sind die Versuchspersonen fortlaufend numeriert, ihr Alter, Geschlecht, die klinischen Diagnosen, sowie die Liquorbefunde zusammengestellt. In der Tabelle 2 werden entsprechend der Versuchsnummer die jeweils gefundenen Glycerin-, freie Fettsäuren (NFS)-Konzentrationen in μMol bzw. $\mu\text{Äqu. pro Liter}$ angeführt.

Wir konnten unsere Ergebnisse nach verschiedenen Krankheitsbildern in sechs Gruppen unterteilen. Die Gruppe I umfasst 17 stoffwechselgesunde Personen, 3 bis 56 Jahre alt, die keinen pathologischen Befund des ZNS aufwiesen, die Gruppe II solche zwischen 17 und 57 Jahren mit entzündlichen Veränderungen am ZNS, die Gruppe III Probanden 37 bis 62 Jahre alt mit degenerativen oder entzündlichen Gefäßprozessen des Nervensystems; in der Gruppe IV (Altersverteilung zwischen 6 und 62 Jahren) sind Patienten mit gesichertem bzw. klinisch wahrscheinlichem Tumorbefund zusammengefasst. Patienten mit traumatischer oder genuiner Epilepsie (3 bis 52 Jahre) der Gruppe V zugeordnet. Patienten mit systematischen Atrophien des ZNS bilden die Gruppe VIa, mit einer diffusen Hirnatrophie oder Hydrocephalus (1 bis 57 Jahre) die Gruppe VIb.

Schliesslich stellt die Gruppe VII zwei Versuchspersonen dar, die vor einer Lumbalpunktion oral eine grössere Menge von 70 gr. bzw. 86 gr. Glycerin erhielten. Es handelt sich um einen Stoffwechselgesunden Probanden und einen Patienten mit einer myatrophischen Lateralsklerose im fortgeschrittenen Stadium, denen im Nüchternzustand 86 gr. bzw. 70 gr. in 3 Tassen mit destilliertem Wasser gelöstes Glycerin 100 Min. vor der Lumbalpunktion oral zugeführt wurde.

TABELLE 1

Gruppe I: Keine pathologischen Veränderungen am ZNS

Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Liquorbefunde			Gesamteiweiß n. Kafka	Normomastixkurve
				Art	Zellen	Pandy		
1	Loh. W.	42 J	o. B.	Lumbal- liquor	0/3	-	0,7	regelmäßig
	♂							
2	Höb. H.	26 J	o. B.	Lumbal- liquor	9/3	(+)	1,2	Linksacke bis IV im 2. Röhren
	♀ +							
3	Kah. W.	28 J	1950 epid. Meningitis Jetzt o. B.	Lumbal- liquor	3/3	-	0,8	regelmäßig
	♂							
4	Boss. R.	37 J	Ischiassyndr. durch Band- scheibenvorfall L ₄ -L ₅	Lumbal- liquor	4/3	-	0,3	regelmäßig
	♀ +							
5	Dan. H.	20 J	o. B.	Lumbal- liquor	1/3	-	1,0	regelmäßig
	♂							
6	Hof. L.	29 J	o. B.	Lumbal- liquor	7/3	-	0,8	regelmäßig
	♀ +							
7	Ham. G.	32 J.	Asthenischer Psychopath	Lumbal- liquor	5/3	-	1,0	regelmäßig
	♂							
8	Licht. M.	31 J	Cyclothymie	Lumbal- liquor	0/3	(+)	1,0	regelmäßig
	♀ +							

TABELLE 1 (Fortsetzung)

Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Liquorbefunde			Gesamteiweiss n. Kaffka	Normomastixkurve
				Art	Zellen	Pandy		
9	Ger. L. ♀ +	37 J	Vasomotor. Kopfschmerzen, Ausgeheilte Neuro- lues.	Lumbal- liquor	3/3	++	1,0	Linksacke bis V im 5 Röhrchen
10	Wal. J. ♀ +	56 J	Hypertonie. Vegetative Labilität.	Lumbal- liquor	4/3	opal Phase I	1,2	regelmäßig
11	Kna. M. ♀ +	30 J	Myopathie? Neuritisches S. an den unt. Extr.	Lumbal- liquor	2/3	opal Phase I	1,2	Linksacke bis V im 2 Röhrchen
12	Her. R. ♀ +	50 J	Zust. n. Bandscheibenop.	Lumbal- liquor	6/3	opal	1,2	Linksacke bis V im 2 Röhrchen
13	Nag. M. ♀ +	31 J	o. B.	Lumbal- liquor	6/3	(+)	1,0	regelmäßig
14	Kle. D. ♂	3 J	o. B.	Venrikel- liquor	2/3	-	0,2	regelmäßig
15	Ein. M. ♂	54 J	Depres. Zustandsbild	Cistern.- liquor	4/3	-	1,1	regelmäßig
16	Nef. J. ♂	26 J	Verdacht auf lumb. Diskopathie L ₄ -L ₅	Cistern.- liquor	4/3	(+)	1,2	regelmäßig
17	Fei. O. ♂	47 J	Depres. Verstimmung	Cistern.- liquor	3/3	-	0,7	regelmäßig

TABELLE 1 (Fortsetzung)

Gruppe II: Meningitis. Encephalitis. Lues cerebrospinalis. Neuritis.

Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Liquorbefunde			Gesamteiweiß n. Kafka	Nomomastixkurve
				Art	Zellen	Pandy		
18	End. A.	17 J	Tbc. Meningitis ♂	Lumbal- liquor	434/3	+++	3,5	Linksacke bis VII im 4 und 5 Röhrchen
19	Wil. M.	28 J	Tbc. Meningitis ♂	Lumbal- liquor	262/3 Ly 93% Mon 7%	(+)	1,0	Linksacke bis VI im 2 Röhrchen
20	Mül. A.	23 J	Progr. Paral. Deutliche diff. Hirnatrophie. ♀ +	Cistern.- liquor	41/3	+	1,0	Linksacke bis IX im 2 Röhrchen
21	Rüd. E.	55 J	Encephal. disseminata ♀ +	Lumbal- liquor	4/3	(+)	1,3	Linksacke bis V im 3 Röhrchen
22	Foh. E.	57 J	Lues cerebrospinalis ♂	Lumbal- liquor	10/3	+	1,4	Linksacke bis VI im 3 Röhrchen
23	Zen. B.	47 J	Lues cerebrospinalis (vaskul. Form) ♀ +	Lumbal- liquor	300/3	++	1,9	Linksacke bis X im 3 Röhrchen
24	Kohl. H.	33 J	Polyneuritis ♂	Lumbal- liquor	8/3	++	2,1	Linksacke bis VI im 2 Röhrchen

TABELLE 1 (Fortsetzung)

Gruppe III: Organische Gefäßveränderungen				Liquorbefunde			Gesamteiweiß n. Kafka	Normastixkurve
Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Art	Zellen	Pandy		
25	Lang. W. ♂	37 J	Cerebr. org. Geschehen	Lumbal- liquor	1/3	+	1, 2	Linkszacke bis V im 2 Röhrchen
26	Über. K. ♂	42 J	Entz. cerebr. Gefäßerkran- kung (Win. -Bürger?)	Lumbal- liquor	34/3	+++	2, 3	Linkszacke bis V im 3 und 4 Röhrchen
27	Ber. A. ♀ +	60 J	Periarteritis nodosa	Lumbal- liquor	12/3	Trübung Phase I neg.	1, 8	Linkszacke bis VII im 3 Röhrchen
28	Rip. P. ♂	59 J	Cerebralsklerose	Lumbal- liquor	15/3	+	1, 2	regelmäßig
29	Eis. M. ♀ +	50 J	Parkinsonismus (wahrsch. vask.)	Lumbal- liquor	8/3	(+)	1, 2	Linkszacke bis VI im 2 Röhrchen
30	Leut. M. ♂	55 J	Gefäßsklerose, Mässige Hirnatrophie	Cistern. - liquor	1/3	-	0, 9	regelmäßig
31	Kor. M. ♀ +	62 J	Cebr. Gefäßprozess	Cistern. - liquor	26/3	-	0, 6	regelmäßig
32	Fr. J. ♂	51 J	Cerebralsklerose, Mässige Hirnatrophie.	Cistern. - liquor	3/3	(+)	1, 1	regelmäßig

TABELLE 1 (Fortsetzung)

Gruppe IV: Geschwülste des ZNS				Liquorbefunde			Normomastixkurve
Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Art	Zellen	Pandy	
							Gesamteiweiss n. Kafka
33	Mah. V. ♀ +	59 J	Gehirntumor	---	---	---	---
34	Pen. G. ♂	6 J	Hirntumor	Lumbal- liquor	4/3	-	0,9 regelmäßig
35	Kla. W. ♂	8 J	Medul. Tumor	Lumbal- liquor	8/3	-	1,1 regelmäßig
36	Zic. A. ♀ +	8 J	Li. betonte Anfälle	Lumbal- liquor	14/3	-	0,4 regelmäßig
37	Sta. A. ♂	48 J	Cerebr. Raumbeschränkung	Lumbal- liquor	1/3	(+)	1,2 Linksacke bis VI im 2 Röhren
38	Abs. K. ♀ +	62 J	Rückenmarkstumor? Bandscheibenvorfall?	Lumbal- liquor	486/3	(+) Phase I	2,2 Linksacke bis VII im 3 Röhren
39	Röm. E. ♀ +	12 J	Verdacht auf Tumor	Lumbal- liquor	6/3	-	0,8 regelmäßig
40	Haf. H. ♂	43 J	Raumbeschränkung im re. Stammganglienbereich	Cistern.- liquor	17/3	+++	3,4 Linksacke bis VI im 4 Röhren

TABELLE 1 (Fortsetzung)

Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Liquorbefunde			Gesamteiweiss n. Kafka	Normomastixkurve
				Art	Zellen	Pandy		
41	Kre. B. ♀ +	29 J	Tumor in der hint. Schädelgrube	Ventrikel- liquor Li.	4/3	-	0,2	regelmäßig
42	Kre. B. ♀ +	29 J	Tumor in der hint. Schädelgrube	Ventrikel- liquor Re.	1/3	-	0,1	regelmäßig
43	Sau. G. ♂	52 J	Cerebrale Raumbeschränkung re parasagittal	Ventrikel- liquor	5/3	-	0,3	regelmäßig
Gruppe V: Genuiene und traumatische Epilepsie. Hirntrauma.								
44	Jur. H. ♂	52 J	Traum. Epilepsie	Lumbal- liquor	2/3	-	1,0	Linksacke bis IV im 2. Röhren
45	Har. F. ♂	42 J	Traum. Epilepsie	Lumbal- liquor	4/3	-	1,0	regelmäßig
46	Bau. F. ♂	28 J	Status epilepticus	Lumbal- liquor	20/3	+	1,2	Linksacke bis IV im 2. Röhren
47	Wei. P. ♂	3 J	Temporallappenepilepsie	Lumbal- liquor	9/3	(+)	1,2	regelmäßig
48	Bau. F. ♂	28 J	Status epilepticus	Cistern.- liquor	3/3	-	1,2	regelmäßig

TABELLE 1 (Fortsetzung)

Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Liquorbefunde			Gesamteiweiß n. Kafka	Normomastixkurve
				Art	Zellen	Pandy		
49	Man. H. ♂	22 J	Frühkindliche Hirn- schädigung	Cistern.- liquor	2/3	-	0,5	regelrecht
50	Reu. G. ♀ +	7 J	Cerebrale Anfälle	Lumbal- liquor	3/3	(+)	1,0	regelrecht
51	Wei., W. ♂	14 J	Anfälle	Lumbal- liquor	0/3	-	1,0	regelrecht
52	Mat. ♂	6 J	Re-betonte Anfälle	Lumbal- liquor	0/3	-	0,3	regelrecht
Gruppe VIa: Systematrophien des ZNS								
53	Sch. A. ♂	54 J	Myatrophische Lateral- sklerose	Lumbal- liquor	2/3	+	1,2	regelrecht
54	Mär. K. ♀ +	60 J	Kleinhirnatrophie	Lumbal- liquor	28/3	-	1,1	regelrecht
55	Sch. E. ♀ +	63 J	Myatrophische Lateral- sklerose	Lumbal- liquor	2/3	opal Phase I	1,1	Linksacke bis IV im 2 Röhren

TABELLE 1 (Fortsetzung)

Gruppe VIb: Diffuse Hirnatrophie, Hydrocephalus.								
Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Liquorbefunde				
				Art	Zellen	Pandy	Gesamteiweiss n. Kafka	Normomastixkurve
56	Pfa. F. ♂	49 J	Korsakow bei chron. Alkoh. Polyneuritis. Deutliche Hirnatr. Erw. d. Liquor- räume	Lumbal- liquor	8/3	(+)	0,5	regelmäßig
57	Obe. B. ♂	47 J	Hirnsatzminderung vorw. im Cortexbereich	Lumbal- liquor	2/3	-	1,1	regelmäßig
58	Fal. J. ♂	40 J	Leichte Atrophie im Be- reich der Grosshirnhemi- sphären	Lumbal- liquor	15/3	-	0,8	regelmäßig
59	Sch. E. ♂	57 J	Diffuse Hirnatrophie leichten Grades	Lumbal- liquor	3/3	(+)	0,9	regelmäßig
60	Erh. R. ♂	1 J	Hydrocephalus	Lumbal- liquor	0/3	-	0,7	regelmäßig
61	Alb. S. 0 +	1 J	Hydrocephalus	Fonta- nelle Li.	1/3	-	0,5	regelmäßig
62	Alb. S. 0 +	1 J	Hydrocephalus	Fonta- nelle Re.	2/3	-	0,3	regelmäßig

TABELLE 1 (Fortsetzung)

Gruppe VII: Orale Glycerinbelastung								
Nr.	Patient	Alter	Klinische Diagnose	Liquorbefunde			Gesamteiweiss n. Kafka	Normomastixkurve
				Art	Zellen	Pandy		
63	Thu. U. ♀	28 J	Migräne	Lumbal- liquor	3/3	opal Phase I	0, 8	Linksacke bis IV im 2 Röhren
64	Fur. K. ♀	59 J	Myatrophische Lateral- sklerose	Lumbal- liquor	4/3	opal Phase I	1, 1	-----

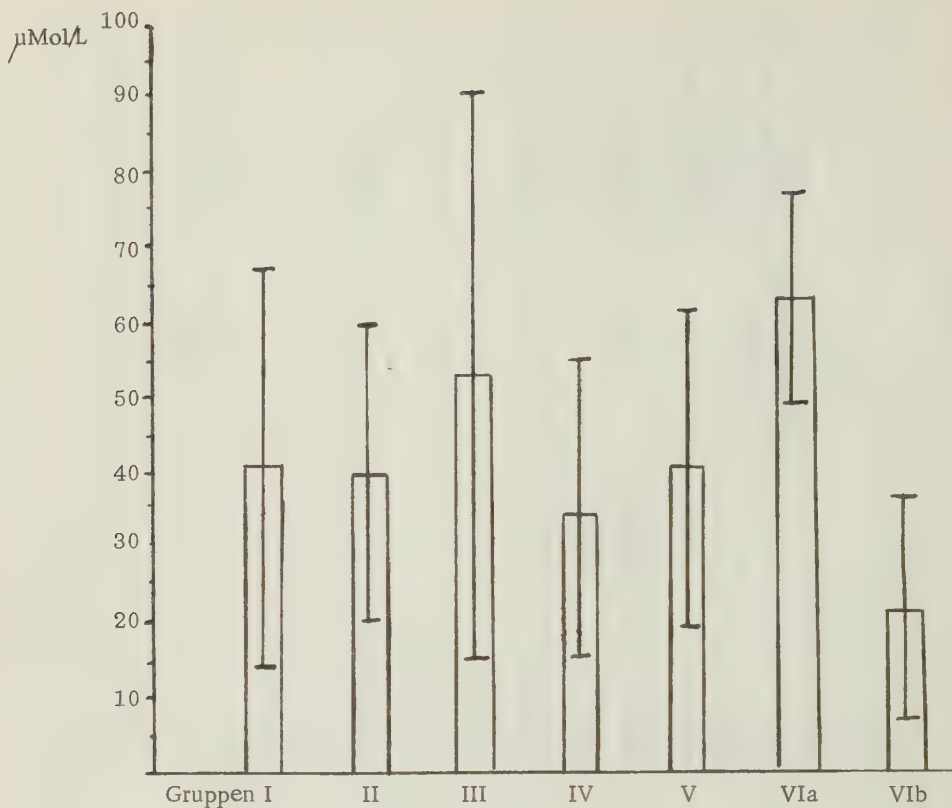


ABBILDUNG 1: Mittelwerte mit Standardabweichung der Gruppen I - VIb (s. a. Tabelle 2)

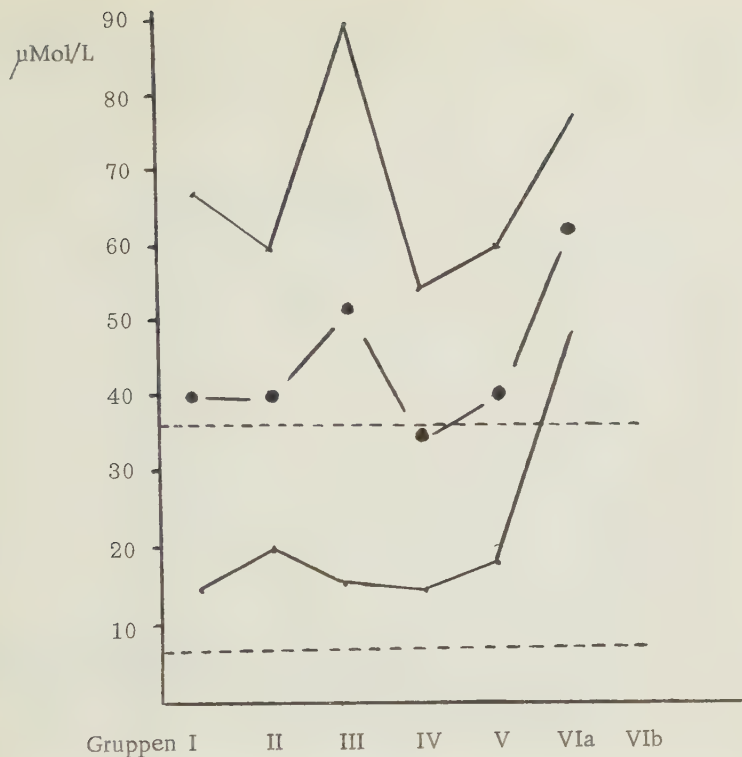


ABBILDUNG 2: Streuungsbreite und Mittelwerte (mittlere Kurve) der Glycerinkonzentrationen bei den Gruppen I bis VIb. Der Bereich zwischen den strichlierten Linien stellt die Streuungsbreite der Gruppe VIb dar.

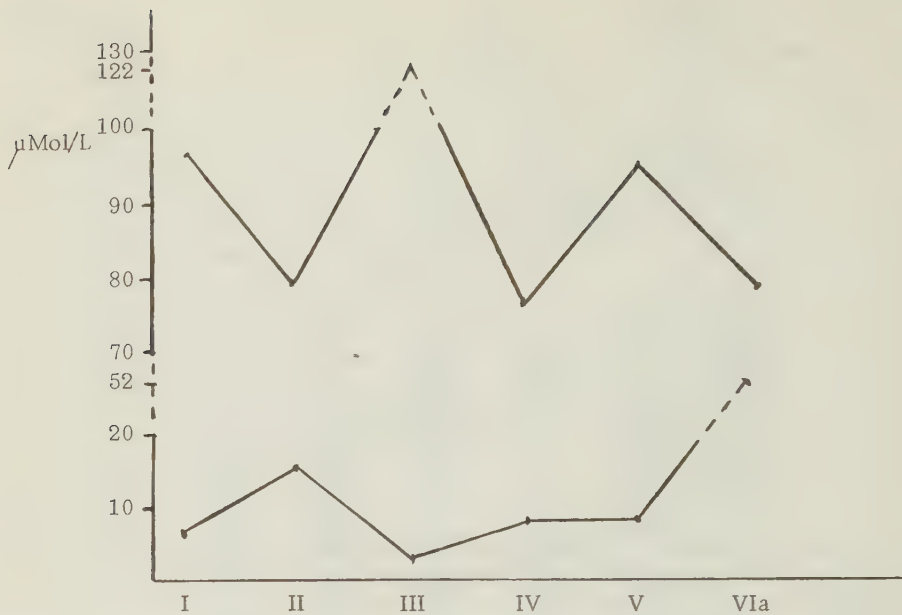


ABBILDUNG 3: Die jeweils in den Gruppen I bis VIa beobachteten Höchst- (obere Kurve) und Mindest-Glycerinkonzentrationen ($\mu\text{Mol/L}$) im Liquor.

TABELLE 2

Verhalten des Glycerins und der freien Fettsäuren (NFS)
im Liquor

Nr.	Glycerin in $\mu\text{Mol/Liter}$	NFS in $\mu\text{Äqu. /Liter}$
-----	-----------------------------------	--------------------------------

Gruppe I: Zahl der Versuchs-Personen = 17

1	6,06	0
2	6,06	0
3	59,1	0
4	34,82	0
5	96,9	0
6	30,3	0
7	60,6	0
8	33,3	0
9	46,9	-
10	60,6	0
11	75,6	0
12	54,5	0
13	60,6	-
14	31,0	0
15	9,7	0
16	7,6	-
17	12,1	0

Mittelwert $40,3 \pm 26,5$

Gruppe II: Zahl der Versuchs-Personen = 7

18	18,2	0
19	34,8	0
20	45,4	0
21	15,15	0
22	78,6	0
23	36,3	0
24	46,8	-

Mittelwert $39,4 \pm 19,8$

Gruppe III: Zahl der Versuchs-Personen = 8

25	87,9	0
26	53,0	0
27	57,0	0

TABELLE 2 (Fortsetzung)

Nr.	Glycerin in $\mu\text{Mol/Liter}$	NFS in $\mu\text{\AA qu. /Liter}$
28	34,8	0
29	30,3	0
30	30,3	-
31	3,03	-
32	122,7	-
Mittelwert 52,4 $\pm$ 37,2		

Gruppe IV: Zahl der Versuchs-Personen = 11

33	51,0	0
34	22,7	0
35	54,5	-
36	22,7	0
37	22,75	0
38	39,6	0
39	37,8	0
40	75,7	0
41	15,1	0
42	7,5	-
43	30,3	0
Mittelwert 34,5 $\pm$ 19,9		

Gruppe V: Zahl der Versuchs-Personen = 9

44	9,9	0
45	93,9	-
46	62,1	0
47	27,3	-
48	36,3	0
49	12,12	0
50	59,0	-
51	7,5	-
52	50,0	0
Mittelwert 39,8 $\pm$ 29,1		

Gruppe VIa: Zahl der Versuchs-Personen = 3

53	78,7	-
54	56,6	0

TABELLE 2 (Fortsetzung)

Nr.	Glycerin in $\mu\text{Mol/Liter}$	NFS in $\mu\text{Äqu. /Liter}$
55	52,6	0
Mittelwert 62,6 $\pm$ 14		

Gruppe VIb: Zahl der Versuchs-Personen = 7

56	4,54	0
57	7,57	0
58	50,0	-
59	16,65	0
60	19,7	0
61	22,0	-
62	27,0	-
Mittelwert 21,1 $\pm$ 15,0		

Gruppe VII: Zahl der Versuchs-Personen = 2

63	1075,0	0
64	500,0	0

6. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Wie aus der Tabelle 2 ersichtlich ist, gelang es in keinem der von uns untersuchten Fälle freie Fettsäuren (NFS) im Liquor nachzuweisen, obschon anzunehmen wäre, dass der NFS-Spiegel durch die mit der Lumbalpunktion verbundene Schockwirkung (Adrenalinausschüttung (40)) erhöht ist. Auch in solchen Fällen nicht, die infolge des Krankheitsgeschehens eine gesteigerte Permeabilität der Kapillarwand erwarten liessen, z. B. Gruppe II, III oder IV. Es ist ja bekannt, dass Stoffe wie Trypanblau, Bilirubin, proteingebundenes Jod oder Chrom, die in das normale Gehirn gar nicht oder sehr langsam eintreten, dies bei Entzündungen, primären oder metastatischen Tumoren, durch Hitze oder Ultraschall gesetzte Läsionen ohne Schwierigkeiten tun.

Im Gegensatz dazu war es uns möglich, in allen Fällen Glycerin in der Cerebrospinalflüssigkeit nachzuweisen. Die Abbildung 1 informiert über die Mittelwerte der gefundenen Konzentrationen sowie über deren Standardabweichung bei den verschiedenen Krankheitsgruppen. Die Aufschlüsselung nach Diagnosen ergibt keine charakteristische und für ein bestimmtes Krankheitsbild typische Veränderung der Glycerinkonzentration; es scheint, dass die verschiedenen mitunter sehr schweren organischen Veränderungen des ZNS keinen Einfluss auf den Glyceringehalt des Liquors ausüben. Auch die Steigerung der Permeabilität der Gefässe im Gehirn zeigte hierauf im Einzelfall bei den von uns untersuchten Fällen keine Wirkung.

Lediglich die Glycerinwerte der Gruppe VIb machen hierin eine Ausnahme: Der Mittelwert und die durch die Standardabweichung gegebene Streuung, wie es die Abbildung 2 veranschaulicht, liegen deutlich tiefer im Vergleich zu den übrigen Gruppen. Obwohl die Anzahl der Versuche (7) nur begrenzt eine statistisch gestützte Aussage erlaubt, glauben wir, dass es sich hierbei um ein allgemein gültiges Phänomen handelt, zumal die Resultate der Gruppe VIa, gewonnen bei Patienten mit einer kaum ins Gewicht fallenden Substanzminderung des ZNS, im Mittel den übrigen Gruppenmittelwerten entsprechen (s. a. Abbildung 1). Die Vergrößerung der Liquorräume, also die Zunahme des Liquorvolumens setzt prozentual den Glyceringehalt herab. Ob dies als "Verdünnungseffekt" bei gleichbleibender "Produktion" anzusehen ist, oder ob primär die Resorption betroffen ist, muss durch weitere Versuche geklärt werden.

Unterschiede im Verhalten des Glycerins im Lumbal-, Cisternen-, oder Ventrikelliquor waren bei der geringen Anzahl der entsprechenden Versuche (insgesamt 6 Ventrikel- und 10 Cisternenliquor) statistisch nicht zu dokumentieren. Indessen lassen sich den beobachteten niedrigen Konzentrationen ähnlich tiefe Werte aus dem Lumballiquor an die Seite stellen und einige repräsentieren Höchstwerte in ihrer Gruppe. In einem Fall (Versuchsnummer 46. 48) hatten wir Gelegenheit, Lumbal- und Cisternenliquor vom gleichen Patienten, an verschiedenen Tagen gewonnen, zu untersuchen. Der festgestellte Unterschied erweist sich innerhalb der Gruppe als nicht signifikant.

Die beobachteten Minimal- und Maximalwerte in den Gruppen I bis VIa ergeben eine nicht unerhebliche Schwankungsbreite (Abbildung 3). Wir glauben, dass methodische Unzulänglichkeiten auszuschliessen sind. Unsere Bestimmungen, wie wir sie in dem Kapitel Methodik ausgeführt haben, geben grössenordnungsmässig sicher den wahren Glyceringehalt an. Das Phänomen kehrt dennoch regelmässig wieder. Ähnlich verhalten sich die Glycerinkonzentrationen auch im Blut; bei einem Spiegel im Mittel $276 \pm 41,4 \mu\text{Mol/Liter}$ (41) wurden Mindestwerte um 80 und Höchstwerte um $400 \mu\text{Mol/Liter}$ beobachtet (43). Man könnte nun aus diesen Tatsachen den Schluss ziehen, dass der Glycerinspiegel in der Cerebrospinalflüssigkeit in einem bestimmten Verhältnis zu demjenigen des Blutes steht und dessen Schwankungen mitmacht, wie es ja von vielen Stoffen bekannt ist. Zu dieser Schlussfolgerung berechtigen uns auch die Ergebnisse der oralen Glycerinbelastung (s. a. Tabelle 2). Wir fanden hierbei im Liquor 100 Min. nach Verabreichung von 86 gr. bzw. 70 gr. Glycerin Werte, die mehr als das 20- bzw. 10-fache des ermittelten Mittelwertes bei gesunden Personen betrugen und mit einem erhöhten Blutspiegel, wie angenommen werden muss, einhergingen. Schwarz und Mitarbeiter (43) untersuchten den Serumglycerinspiegel nach einer oralen Glyceringabe von 10 gr. und fanden, dass diese Triose nach 15 bis 20 Min. bereits resorbiert ist und eine maximale Serumkonzentration erreicht. Ausserdem berechneten sie, nach intravenöser Verabreichung, die biologische Halbwertszeit auf 2 Min. Inwieweit eine verspätete "Angleichung" des Liquorglyceringehaltes an den Blutspiegel erfolgt, wie es bei der Glucose auch der Fall ist, oder ein längeres "Verbleiben", also eine pro Zeiteinheit gegenüber der Norm verminderte, oder nicht veränderte Rückresorption des Glycerins in der Cerebrospinalflüssigkeit bei stark erhöhtem Spiegel vorliegt, kann erst durch Simultanversuche in beiden Körperflüssigkeiten beantwortet werden.

7. DISKUSSION

Aus den vorliegenden Ergebnissen geht hervor, dass das Glycerin zu den normalerweise stets im Liquor vorhandenen Substanzen zu rechnen ist. Das Verhältnis der Konzentrationen Liquor: Plasma liegt durchschnittlich in der Grössenordnung 1 : 7. Dagegen liessen sich in keinem der von uns untersuchten Fälle freie Fettsäuren (NFS) nachweisen, woraus allgemein auf das Fehlen dieser Stoffe in der Cerebrospinalflüssigkeit geschlossen werden kann.

Die breite Streuung der einzelnen Werte im Liquor, das gleiche Phänomen im Blut, sowie das Ansteigen des Glycerinliquorspiegels nach oralen Gaben berechtigen zu der Annahme, dass die Höhe des Liquorspiegels von der Blutkonzentration abhängig ist. Wir möchten mit Sicherheit annehmen, dass dem stark erhöhten Glyceringehalt der Cerebrospinalflüssigkeit 100 Min. nach der oralen Verabreichung ein ebenfalls sehr hoher Blutspiegel entsprach. Denn wie Schwarz und Mitarbeiter (43) zeigten,

erreicht die Kurve der Serumwerte bei der oralen Belastungsprobe mit nur 10 gr. Glycerin erst nach 105 Min. und länger das Ausgangsniveau wieder. Wieland (51) konnte ebenfalls nach per os Einnahme von 50 gr. eine Normalisierung des Blutspiegels innerhalb von 6 Stunden beobachten und stellte ferner fest, dass in diesem Zeitraum nur 10 % der zugeführten Menge durch die Nieren ausgeschieden wurde. Er berechnete aufgrund des Glycerokinasegehaltes der Leber und der Nieren die Utilisation des Glycerins im Organismus auf 10 gr. pro Stunde.

Über den Übertrittmodus dieser Triose vom Blut in das quasi geschlossene System des ZNS ist durch diese Untersuchungen keine verbindliche Aussage ohne weiteres möglich. Das Glycerin ist eine gut wasserlösliche Verbindung mit verhältnismässig kleinem Molekulargewicht (92). Man könnte einen freien Austausch dieser Substanz zwischen dem Liquor, dem Blut und der Gewebsmasse des ZNS nach den physikalischen Gesetzen der Diffusion annehmen, wie es bei anderen niedermolekularen, wasserlöslichen und nicht dissoziierten Substanzen sicher der Fall ist. Den Konzentrationsunterschied intravasal und in der Cerebrospinalflüssigkeit könnte man auch in diesem Fall mit der Ausdehnung der diffusionswirksamen Kontaktfläche zwischen den beiden Körperflüssigkeiten und durch die Liquorzirkulation erklären, wie wir es im einzelnen im Kapitel 2 dargelegt haben. Dagegen sprechen allerdings die etwas niedrigeren Konzentrationen bei der Gruppe VIb (Hydrocephalus, diffuse Hirnatrophie); es ist ja hierbei anzunehmen, dass die Kontaktfläche zwischen Liquor und Gehirn im Vergleich zu der Vergrößerung des Liquorvolumens stärker zunimmt. Man müsste, wenn nur Diffusionskräfte bestimmend wären, mindestens eine gleich stark, eher noch konzentriertere Lösung vorfinden. Bemerkenswert erscheinen auch die unbedeutenden Unterschiede der Mittelwerte (s. a. Abbildung 1) bei den übrigen Krankheitsbildern. Inwieweit ein anderer, aktiver Transportmechanismus, wie ihn Tschirgi (48) für den Glukosetransport vom Blut ins Gehirn postulieren zu können glaubt, in die Regulierung des Glyceringehaltes im Liquor eingreift, kann allein durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Glycerin tritt jedenfalls vom Blut auch in das ZNS, zumindest in die extracelluläre Flüssigkeit dieses Gewebes ein. Das Gehirn weist eine Konzentration von $36,0 \mu\text{Mol/gr. Frischgewicht}$ auf (51). Wieso gerade dieses Organ (und der Herzmuskel), das doch über keine Glycerophosphatkinaseaktivität verfügt und die Triose, wie es scheint, nicht zu utilisieren imstande ist, diese Eigentümlichkeit gegenüber allen anderen Organen, abgesehen von Leber und Nieren, aufweist, bleibt durch weitere Versuche zu klären. Vielleicht hängt es mit der besonderen Stellung des Glycerins im indermediären Stoffwechsel der Kohlenhydrate und der Fette zusammen, da es sich an der Übergangsstelle eines Teiles der in dem Fettgewebe verankerten Energie befindet und auf dem Glukoseabbauweg verwertet werden kann. Allerdings ist hierzu nicht die freie, sondern nur die phosphorylierte Verbindung befähigt.

Wie bereits erwähnt, blieb der Nachweis der NFS im Liquor regelmässig negativ. Man könnte diesen Tatbestand einmal dadurch zu erklären versuchen, dass die freien Fettsäuren im Plasma durch eine lockere Bindung an Albumine löslich gemacht werden und solcherart strukturierte Substanzen ja ohnehin die Bluthirnschranke schwer passieren; andererseits ist die Albuminkonzentration in der Cerebrospinalflüssigkeit minimal und limitiert die Menge der gelösten, nicht veresterten Fettsäuren, die sich dem Nachweis entziehen würden. Dann müsste allerdings mit einer stärkeren Zunahme der Albumine im Liquor der Nachweis der freien Fettsäuren gelingen, das ist aber nicht der Fall (s. Tabelle 1 und 2). Da die notwendigen spezifischen Enzyme am Ort fehlen, kann der geringe Gehalt des Liquors an Triglyceriden, mit papierchromatographischen, qualitativen Methoden festgestellt (23) nicht aus der Konjugation freier Fettsäuren und Glycerin entstanden gedacht werden.

Nach Steinwall und Tschirgi (45, 48) scheint es aufgrund ihrer Untersuchungsergebnisse wahrscheinlich, dass für organische Säuren, besser für Stoffe, die ein hydrophiles, polares und ein hydrophobes, nicht polares Ende aufweisen, also auch für die NFS, ein aktiver Transportmechanismus, der nur in Richtung vom Gehirn zum Blut wirksam wird, existiert und diese Stoffe am Übertritt ins Gehirn bzw. in die Cerebrospinalflüssigkeit verhindert. Dieser Mechanismus soll möglicherweise substantielle Ähnlichkeiten mit dem Transportmechanismus in den proximalen Nierentubuli haben, wo solche organische Säuren aktiv vom Blut durch die Tätigkeit der Tubuluszellen in den Urin befördert werden. Tatsächlich gelang es Steinwall durch Substanzen, die diesen Vorgang in den proximalen Nierentubuli hemmend beeinflussen, wie z. B. Schwermetalle, 2-4-dinitrophenol, Fluoride, Malonate und durch stark erhöhte Konzentration dieser Säuren selbst im Blut die Durchlässigkeit der Bluthirnschranke gegenüber solchen Stoffen zu erhöhen und zwar verwendete er Phenolrot, Protosil solubile und p-Aminohippursäure. Er glaubt, dass dieser Mechanismus wahrscheinlich dazu diene, toxische Produkte ähnlicher chemischer Struktur, die im ZNS entstehen können, wie beispielsweise bei der Konjugation aromatischer Verbindungen mit Glukuronsäure, zu entfernen. Tschirgi (48) versucht auch den Eintritt von Glucose und anorganischen Ionen, insbesondere Na^+ und Cl^- in das ZNS auf einen ähnlichen, wie in den Nieren schon beschriebenen, aktiven Transportmechanismus zurückzuführen. Und erst jüngst glauben Davson und Pollay (13) ebenfalls für die p-Aminohippursäure, J^{131} , und Thiocyanat mittels einer Perfusionsvorrichtung, die ihnen erlaubt, diese Substanzen in das Ventrikelsystem eines Versuchstieres einzubringen und deren Konzentration in der ausgetretenen Perfusionsflüssigkeit nachzuprüfen, einen aktiven Transportvorgang, der im wesentlichen nur vom Liquor zum Blut stattfindet, nachgewiesen zu haben. Sie lokalisieren ihn sogar bei ihrem Versuchstier (Kaninchen) in den Epithelzellen des Plexus chorioideus.

Unsere Ergebnisse ermöglichen nicht eine Überprüfung dieser Theorien. Jedenfalls erscheint es bemerkenswert, dass auch bei Krankheitsbildern, die mit einer stark erhöhten Permeabilität des Kapillarenthothels einhergehen, wie z. B. Meningiti-

den, keine freien Fettsäuren und keine signifikante Veränderung der Glycerinkonzentration im Liquor eintrat.

Zusammenfassung

Der Liquor cerebrospinalis wird erstmalig, bei 17 gesunden Versuchspersonen und 47 mit neurologischen Krankheitsbildern, auf seinen Glycerin- und freie Fettsäuren (NFS)-gehalt untersucht.

Die Glycerinkonzentration beträgt im Mittel $40,6 \mu\text{Mol/Liter}$. Bei Krankheitsbildern, die mit einer erheblichen Vergrößerung der inneren und äusseren Liquorräume, bzw. mit einer starken Substanzminderung des Gehirns einhergehen, ist sie durchschnittlich um etwa 50 % niedriger. Von dieser Ausnahme abgesehen lässt sich keine Beziehung des Glyceringehaltes zur klinischen Diagnose, zum sonstigen Liquorbefund oder zum Alter und Geschlecht erkennen.

Zwei Patienten erhielten 100 Min vor der Lumbalpunktion eine grössere Menge Glycerin per os. Im Liquor wurden hierauf Konzentrationen um $1000 \mu\text{Mol/L}$ nachgewiesen.

In keinem Fall konnten freie Fettsäuren nachgewiesen werden.

Probleme der Bluthirnschranke, der Liquorchemie und des Gehirnstoffwechsels werden angeführt und die mögliche Ursachen für das Fehlen der freien Fettsäuren diskutiert.

Herrn Professor Dr. Dr. G. BODECHTEL danke
ich herzlich für die Übernahme des Correferat-
tes. Mein ganz besonderer Dank gilt
Herrn Privat-Dozent Dr. K. SCHWARZ, der
mir das Thema der vorliegenden Arbeit stellte,
einen Laborplatz überliess und mir jederzeit
mit Rat und Tat zur Seite stand. -

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Allen, J. N. : A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat. 73:241 (1955)
2. Bakay, L. : Blood-Brain Barrier. Springfield, Ill. : Thomas 1956
3. Bakay, L. : Dynamic aspekts of the blood-brain-barrier. Metabolism of the Nervous System. London, Pergamon 1957
4. Ballard, F. B. , W. H. Danforth, S. Naegle and B. J. Bing:
J. clin. Invest. 39, 717 (1960)
5. Bering, E. A. : Studies of the role of the chorioid plexus in tracer exchanges between blood and cerebrospinal fluid. J. Neurosurg. 12 (1955)
6. Bering, E. A. : Water exchange of central nervous system and cerebr. fluid. J. Neurosurg. 9 (1952)
7. Bernsmeier, A. und W. Rudolf:
Verh. dtsch. Ges. Kreisl. Forsch. 27, 59 (1961)
8. Brierley, J. B. : Blood-brain barrier: structural aspects. Metabolism of the nervous system. London, Pergamon 1957
9. Butterfield, W. J. H. and G. Schless:
Diabetes 8, 450 (1959)
10. Ciba Foundation: The cerebr. fluid. London, Ja. A. Churchill LTD 1958
11. Davson, H. : Physiology of the ocular and cerebr. fluids. London, Churchill 1956
12. Davson, H. : Cellular aspect of the electrolytes and water in body fluids. Ciba Foundation Colloqu. on Aging 4 (1958)
13. Davson, H. and M. Pollay:
The passage of certain substances out of the cerebr. fluid. Brain, 86, Part I (1963)
14. Demme, H. : Die Liquordiagnostik in Klinik und Praxis. 2. Aufl. Urban und Schwarzenberg (1958)
15. Dempsey, E. W. and G. B. Wislocki:
An electron microscopic study of the bloodbrain barrier in the rat, employing silver nitrate and vital stain. J. Biophys., Biochem. Cytol. 1 (1955)
16. Dobbing, J. J. : Blood-brain-barrier. Phys. Revs. 41 (1961)

17. Ehrlich, P. : Eine farbanalytische Studie. Berlin 1885
18. Farquhar, M. G. and J. F. Hartmann:
Electron microscopy of cerebral capillaries. Anat. Record 124 (1956)
19. Farquhar, M. G. and J. G. Hartmann:
Neuroglial structure and relationships as revealed by electron microscopy. J. Neuropathol. Exptl. Neurol. 16/1957
20. Fredrickson, D. and R. S. Gordan jr. :
The metabolism of albumin-bound C^{14} -labeled unesterified fatty acids in normal human subjects. J. clin. Invest. 37, 1904 (1958)
21. Proesch, E. R. , P. Bally, W. Guhl, E. Ramseier und A. Labhart:
Die Wirkung des Glukagons auf das Fettgewebe. Schweiz. mediz. W.-schr. 47, 1929 (1960)
22. Goldmann, E. E. : Vitalfärbung am ZNS. Berlin 1913
23. Hack, M. H. and F. M. Helmy:
Lipid composition of human cerebr. fluid. Proc. of soc. Exp. Biol. Med. 111, No 2 (1962)
24. Hagen, J. F. : Effect of Glucagon on the metabolism of adipose tissue: J. biol. chem. 236 (1961)
25. Herlin, L. : On phosphate exchange of the central nervous system with special reference to metabolism activity in barriers: Acta Phys. Scand. Suppl. (1956)
26. Hinsberg, K. und W. Geinitz:
Liquorcerebrospinalis. Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Bd. V, Springer (1953)
27. Horstmann, E. und H. Meves:
Zellforschung u. microsc. Anat. 49 (1959)
28. Knauff, H. S. , P. Schabert und H. Zickgraf:
Die Konzentration der freien Aminosäuren im Liquor cerebrospinalis und ihre Beziehung zur Konzentration der freien Plasmaaminoäuren. Klin. W.-schr. 1 (1961)
29. Laurell, S. : Turnover rate of unesterified fatty acids in human plasma. Acta phys. Scand. 41 (1957)

30. Leboeff, B. , R. B. Flinn and G. F. Cahill jr. :
Effect of epinephrine on glucose uptake or glycerol release by adipose tissue. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 102 (1959)
31. Lewandowsky, M. :
Zur Lehre von der Cerebrospinalflüssigkeit. 2. Klin. Mediz. 40 (1900)
32. Lüthy, F. :
Liquor cerebrospinalis. Handbuch der Inn. Mediz. Band V/1. Springer (1953)
33. Mahon, W. A. , J. Steincke, G. M. McKhann and M. E. Mitchell:
Measurement of J¹³¹-Insulin and of Insulinlike activity in cerebrospinal fluid of man. Metabolism, Vol 11 (1962)
34. Maynard, R. A. , R. L. Schultz and D. C. Pease:
Electronmicroscopy of the vascular bed of cat erebral cortex. Am. J. Anat. 100 (1957)
35. Meyer, H. :
Der Liquor. Springer (1949)
36. Richter, D. :
Metabolism of the developing brain. biochemistry of the Developing Nervous System. N. Y. Acad. Press (1955)
37. Shaw and Holley:
J. Lab. Clin. Med. 38 (1951)
38. Schrader, A. und K. F. Weinges:
Vergleichende Bestimmung der insulinähnlichen Aktivität im Blut u. Liquorcerebrospinalis. Klin. W.-schr. 40 (1962)
39. Schwarz, K. :
Über den Nachweis und die Bedeutung der Steroidhormon im Liquor cerebrospinalis. Dtsch. Z. Nervenheilkunde 177 (1958)
40. Schwarz, K. , K. F. Weinges, K. P. Eymer und K. Kopetz:
Über die fettmobilisierende Wirkung von menschlichem STH, Adrenalin und ACTH beim Menschen. 8 Symp. der Dtsch. Gesel. für Endokrin. München 61, Springer
41. Schwarz, K. , K. P. Eymer, K. Kopeth und K. F. Weinges:
Normalwerte des Glycerins im menschl. Serum und dessen Veränderung nach Arterenolinjektionen. Klin. W.-schr. 39 (1961)

42. Schwarz, K. und K. F. Weinges:
Das Verhalten des Glycerins und der nicht veresterten
Fettsäuren im Serum nach Insulin- und Glukagonabgaben
beim Menschen II. Internat. Diabetes-Kongr. Genf 1961
43. Schwarz, K. und Mitarb. :
Untersuchungen über die Resorption u. die biol. Halb-
wertszeit von Glycerin beim Menschen. Klin. W.-schr.
40, 1183 (1962)
44. Selverstone, B. :
Studies of the formation and absorption of the cerebr.
fluid using radioactive isotopes. Ciba Foundation
Sympos. on the Cerebrosp. Fluid, London, Churchill
(1958)
45. Steinwall, O. :
Transport mechanism in certain blood-brain barrier.
Acta psych. et neur. Scand. Suppl. 150, Vol 36 (1961)
46. Sweet, W. H. and B. Locksley:
Formation, flow, and reabsorption of cerebr. fluid in
man. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 84 (1953)
47. Tschirgi, R. D. :
Handbook of Physiology (1960) Section I, Vol. III,
S. 1867
48. Tschirgi, R. D. :
Feder. Proceedings 21 (1962)
49. Waelsch, H. :
Turnover of components of the developing brain; the
blood-brain barrier. Biochemistry of the Developing
Nervus System, N. Y. Acad. Press. (1955)
50. Weinges, K. F. , K. Schwarz, K. P. Eymer und K. Kopetz:
Der Einfluss von STH, ACTH, Adrenalin u. Cortisol auf
die Produktion von nicht veresterten Fettsäuren im Se-
rum nach Insulin- und Glukogongaben, 8 Symp. der
Dtsch. Ges. für Endokrin. München (1961)
51. Wieland, O. und M. Suyter:
Biochem. Z. 329, 320 (1957)
52. Wieland, O. :
Wechselbeziehungen zw. KH u. Fettstoffwechsel u.
ihre Störungen. 8 Koll. des Ges. für Phys. chem. Mos-
bach (1957) - Springer Verlag
53. Wyckoff, R. W. G. and J. C. Young:
Proc. Roy. Soc. London (1958)

Literatur zur Methodik:

- Wieland, O. : Biochem. Zeitschrift 329, 313 (1957)
Dole, V. P. : J. clin. Invest. 35, 150 (1956)

LEBENS LAUF

Am 23. September 1933 wurde ich als Sohn des Installateurs Michael Souvatzoglou und seiner Ehefrau Kyriaki in Saloniki/Griechenland geboren. Nach sechsjähriger Volksschulzeit wurde ich nach bestandener Aufnahmeprüfung in das Experimentelle Gymnasium der Universität Saloniki aufgenommen, das ich im Juli 1952 absolvierte. Im Oktober des gleichen Jahres immatrikulierte ich an der Medizinischen Fakultät der Universität Wien. Anfängliche Sprachschwierigkeiten und eine spätere Krankheit bedingten, dass ich mich erst vom Wintersemester 1956 an meinem Studium voll widmen konnte. Im Sommersemester 1958 wechselte ich an die Universität Kiel über und bestand dort im Oktober 1958 das Physikum. Seit Sommersemester 1959 studierte ich an der Universität München. Hier schloss ich am 4. Mai 1962 das medizinische Staatsexamen erfolgreich ab. Bis März 1963 war ich an der II. Medizinischen Klinik der Universität München als Medizinalassistent tätig. Seit dem 1. April 1963 arbeite ich als Volontärassistent am Max-Planck-Institut für Biochemie in München.

